

## **KARYA AKHIR**

**PENGARUH PEMBERIAN DOKSISIKLIN TERHADAP KADAR  
MATRIKS METALLOPROTEINASE PADA EDEMA CEREBRI DALAM  
CEDERA OTAK TRAUMATIKA TIKUS ALBINO GALUR WISTAR  
(*Rattus Norvegicus*)**

*The Role Of Doxycycline On The Level Of Matrix Metalloproteinase  
In Cerebral Edema In Traumatic Brain Injury Of The Wistar Rat  
(*Rattus norvegicus*)*

**Komet Rama Daud**

**C 104 214 203**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1**

**PROGRAM STUDI ILMU BEDAH**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2020**

**Karya Akhir**

**PENGARUH PEMBERIAN DOKSISIKLIN TERHADAP KADAR  
MATRIKS METALLOPROTEINASE PADA EDEMA CEREBRI DALAM  
CEDERA OTAK TRAUMATIKA TIKUS ALBINO GALUR WISTAR  
(*Rattus Norvegicus*)**

***The Role Of Doxycycline On The Level Of Matrix Metalloproteinase  
In Cerebral Edema In Traumatic Brain Injury Of The Wistar Rat  
(Rattus norvegicus)***

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Dokter Spesialis – 1

Program Studi Ilmu Bedah

Disusun dan Diajukan Oleh

**KOMET RAMA DAUD**

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I  
PROGRAM STUDI ILMU BEDAH FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

## KARYA AKHIR

### PENGARUH PEMBERIAN DOKSISIKLIN TERHADAP KADAR MATRIKS METALLOPROTEINASE PADA EDEMA CEREBRI DALAM CEDERA OTAK TRAUMATIKA TIKUS ALBINO GALUR WISTAR (*Rattus Norvegicus*)

Disusun dan diajukan oleh :

**KOMET RAMA DAUD**

Nomor Pokok : C104214203


Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Akhir

Pada tanggal 25 November 2019

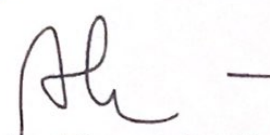
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui :

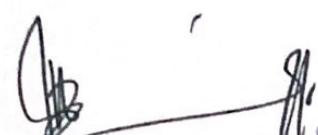
**KOMISI PENASEHAT**


  
Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, SpBS(K)  
Ketua

Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis  
Fakultas Kedokteran Unhas

  
dr. Andi Ihwan, SpBS  
Anggota

a.n. Dekan  
Wakil Dekan Bid. Akademik,  
Riset dan Inovasi

  
dr. Uleno Bahrun, Sp.PK(K), Ph.D  
NIP. 19680518 199802 2 001

  
Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes  
NIP. 19671103 199802 1 001



## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Komet Rama Daud  
Nomor Mahasiswa : C104214203  
Program Studi : Ilmu Bedah

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 25 November  
2019

Yang Menyatakan,



  
Komet Rama Daud

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa berkat dan kemurahan-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan karya akhir ini sebagai salah satu syarat dalam Program Pendidikan Dasar Spesialis I Ilmu Bedah di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar.

Kami menyadari banyak hambatan dan tantangan yang kami hadapi dalam penyusunan karya akhir ini tetapi atas bantuan yang tulus serta semangat yang diberikan pembimbing kami, **Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, SpBS(K), dr. Andi Ihwan, SpBS** dan **dr. Andi Alfian Zainuddin, M.Kes** sehingga penulisan karya ini dapat selesai.

Pada kesempatan ini kami ingin menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA** selaku Rektor Universitas Hasanuddin; **dr. Uleng Bahrn, Sp.PK(K), Ph.D** selaku Manajer Program Pasca Sarjana Unhas; serta **Prof. dr. Budu, PhD, SP.M (K)** sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Unhas ; **Dr. dr Irfan Idris, M.Kes,** sebagai Wakil Dekan Bidang Akademik, Riset dan Inovasi; dan **Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS(K)** sewaktu menjabat sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Unhas yang telah memberi kesempatan kepada kami untuk mengikuti Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Kepada **Dr. dr. Warsinggih, SpB.-KBD, Dr. dr. William Hamdani, SpB(K)Onk dan Dr. dr. Prihantono, Sp.B(K)Onk** sebagai Ketua Bagian Ilmu Bedah, saat menjabat sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah dan sebagai Ketua Program Studi Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang dengan sabar mendidik, membimbing serta menanamkan rasa percaya diri yang kuat dalam diri kami.

Para Guru kami dan Staf Dosen Bagian Ilmu Bedah yang telah mendidik dan membimbing kami dengan sabar dalam meningkatkan ilmu dan keterampilan pada diri kami.

Terima kasih kepada para sejawat Residen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa sehingga penelitian ini dapat terlaksana. Secara khusus kami ucapkan terima kasih kepada teman dan saudara Residen Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Periode Januari 2015, kepada dr. Arham Arsyad, SpB, M.Kes, dr. Nur Hasnah, dr. Nur Ramadhiany Lihawa, dr. Hendra Fajar Pajan; terima kasih untuk bantuan tanpa pamrih yang telah diberikan.

Terima kasih pula kepada semua pihak yang telah membantu namun tidak dapat kami sebutkan satu persatu.

Ungkapan teristimewa saya haturkan kepada Ayahanda Daud Thana dan Ibunda tercinta Lisu Bandaso, kepada saudara-saudari Ferdi dan Sherly, Novi dan Budi, dan Hadi dan Agelinda yang senantiasa memberi dukungan dan semangat untuk menyelesaikan penelitian kami ini.

"Takut akan Tuhan adalah permulaan pengetahuan, tetapi orang bodoh menghina hikmat dan didikan." (Amsal 1:7). Semoga Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan karunia-Nya kepada semua pihak yang mencurahkan budi baik, pengorbanan dan membantu kami selama pendidikan, penelitian dan penulisan karya akhir ini akan memberkati kita semua.

Makassar, 25 November 2019



**Komet Rama Daud**



## ABSTRAK

**KOMET RAMA DAUD.** *Pengaruh Pemberian Doksisisiklin terhadap Kadar Matriks Metalloproteinase pada Edema Cerebri dalam Cedera Otak Traumatika Tikus Albino Galur Wistar (Rattus Norvegicus)* (dibimbing oleh Andi Asadul Islam, Andi Ihwan, dan Andi Alfian Zainuddin).

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian doksisisiklin sebagai penghambat aktivasi MMP-9 terhadap kadar MMP-9 pada edema cerebri dalam cedera otak traumatika tikus wistar.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancang post test kontrol yang terdiri dari satu kelompok kontrol, satu kelompok perlakuan cedera otak traumatika, dan satu kelompok perlakuan cedera otak traumatika diikuti pemberian doksisisiklin.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar MMP-9 secara signifikan antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan cedera otak traumatika, dan kelompok perlakuan cedera otak traumatika diikuti pemberian doksisisiklin dengan  $p=0.01$  ( $p<0.05$ ). Pemberian doksisisiklin dapat menghambat peningkatan kadar MMP-9 pada edema serebri dalam cedera otak traumatika tikus wistar.

Kata kunci: MMP-9, *Doksisisiklin*, Cedera Otak Traumatika



## ABSTRACT

**KOMET RAMA DAUD.** *The Role of Docycicline on The Level of Matrix Metalloproteinase in Cerebral Edema in Traumatic Brain Injury of Wistar Rat (Rattus Norvegicus).* (Supervised by Andi Asadul Islam, Andi Ihwan, and Andi Alfian Zainuddln)

This study aims to know the effect of doxycycline administration as an inhibitor of MMP-9 activation on the level of MMP-9 in cerebral edema in traumatic brain injury.

This study was an experimental study with a post-test control design consisting of one control group, one group with provoked brain injury, and one group with provoked brain injury followed by doxycycline administration.

The results showed that there were significant differences in level of MMP-9 between the control group, the provoked brain injury group and the provoked brain injury group followed by doxycycline administration with  $p = 0.01$  ( $p < 0.05$ ). Doxycycline administration can inhibit the increase of MMP-9 levels in cerebral edema in traumatic brain injury in wistar rats.

Keywords: MMP-9, Doxycycline, Traumatic Brain Injury.





## DAFTAR ISI

Halaman Sampul .....	i
Lembar Pengesahan .....	iii
Pernyataan Keaslian Karya Akhir .....	iv
Kata Pengantar .....	v
Abstrak .....	vii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Gambar .....	xii
Daftar Tabel .....	xiii
Bab I. Pendahuluan .....	1
I.1 Latar Belakang Masalah.....	1
I.2 Rumusan Masalah .....	3
I.3 Tujuan Penelitian.....	3
I.3.1 Tujuan Umum.....	3
I.3.2 Tujuan Khusus .....	3
I.4 Manfaat Penelitian.....	3
I.5 Keaslian Penelitian.....	4
Bab II. Tinjauan Pustaka .....	7
II.1 Telaah Pustaka .....	7

II.1.1	Edema Cerebri pada Cedera Otak Traumatika .....	8
II.1.1.1	Klasifikasi Edema Cerebri .....	8
II.1.2	Matrix Metalloproteinase (MMP).....	13
II.1.2.1.	MMP dalam Edema Vasogenik.....	14
II.1.3	Doksisiklin .....	16
II.1.3.1	Mekanisme Aksi.....	17
II.1.3.2	Farmakokinetik & Farmakodinamik.....	17
II.1.3.3	Dosis dan Administrasi .....	18
II.1.4	Mekanisme Doksisiklin dalam Menghambat MMP .....	19
II.1.5	Dosis dan Administrasi Doksisiklin terhadap Perubahan MMP .....	19
II.1.6	Cedera Otak Traumatika pada Hewan Coba .....	20
II.1.7	Perbedaan Fisiologis.....	20
II.2	Kerangka Teori.....	21
II.3	Kerangka Konseptual .....	22
II.4	Hipotesis Penelitian.....	22
Bab III.	Metode Penelitian .....	23
III.1	Rancangan Penelitian .....	23
III.2	Lokasi dan Waktu.....	23
III.3	Populasi dan sampel .....	23
III.4	Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	24
III.5	Definisi Operasional .....	25
III.6	Kriteria Objektif.....	25

III.7 Instrumen Pengumpulan Data.....	26
III.8 Metode Pemeriksaan .....	27
III.9 Alur Penelitian .....	29
III.10 Analisis Data .....	29
III.11 Pertimbangan Etika .....	29
Bab IV. Hasil dan Pembahasan .....	31
IV.1 Hasil .....	31
IV.2 Pembahasan.....	33
Bab V. Kesimpulan dan Saran .....	37
V.1 Kesimpulan .....	37
V.2 Saran .....	37
Daftar Pustaka .....	38

Lampiran

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Patofisiologi edema sitotoksik dan edema vasogenik .....	10
Gambar 2. Mekanisme yang berkontribusi terhadap edema cerebri vasogenik setelah cedera otak traumatika/TBI .....	11
Gambar 3. Mekanisme edema osmotik.....	12
Gambar 4. Mekanisme pengaliran CSF dan hambatan yang dapat menimbulkan hidrosefalus .....	13
Gambar 5. Struktur Kimia Doksisiklin.....	17
Gambar 6. Langkah Regulasi Matriks Metalloproteinase dan Efek Tetrasiklin pada Regulasi MMP .....	18
Gambar 7. Perbandingan Kadar Matriks Metalloproteinase.....	37

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Perbandingan Kadar Matriks Metalloproteinase 9.....	31
Tabel 2.	Uji Post Hoc Test dengan Metode LSD kadar MMP-9 .....	32

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang Masalah

Cedera otak traumatika merupakan gangguan kompleks akibat terjadinya perubahan fungsi otak atau patologi otak yang disebabkan oleh kekuatan eksternal.<sup>[1]</sup> Sebanyak 1,7 juta orang setiap tahun mengalami cedera otak traumatika di Amerika Serikat.<sup>[2]</sup> Sebuah penelitian berbasis survei besar di 8 negara berpenghasilan rendah dan menengah (LMIC) mengidentifikasi bahwa prevalensi cedera otak traumatika <1% (Cina) hingga hampir 15% (Meksiko dan Venezuela) dari populasi yang diteliti.<sup>[3]</sup> Sedangkan di Indonesia, prevalensi cedera otak traumatika meningkat dari 14,5% di tahun 2007 menjadi 14,9% di tahun 2013. Terdapat peningkatan jumlah kematian dari 6 per 100.000 populasi di tahun 2009, menjadi 120 kasus jumlah kematian oleh karena kecelakaan lalu lintas di tahun 2014.<sup>[4]</sup>

Komplikasi utama dari cedera otak traumatika ialah terjadinya edema cerebri.<sup>[5]</sup> Edema cerebri merupakan keadaan patologis dengan peningkatan volume otak akibat akumulasi cairan yang abnormal di dalam parenkim cerebral. <sup>[6]</sup> Edema cerebri diklasifikasikan ke dalam dua kategori utama, yaitu edema sitotoksik (juga dikenal sebagai seluler) dan edema vasogenik.<sup>[7]</sup> Edema sitotoksik adalah akumulasi cairan di kompartemen intraselular neuron, mikroglia, dan astrosit, sedangkan edema vasogenik ialah peningkatan cairan ekstrasel yang terjadi karena kebocoran *blood brain barrier*



(BBB). Akibatnya, terjadi peningkatan tekanan osmotik dan cairan ke luar dari pembuluh darah serta masuk ke dalam kompartemen ekstraselular. [7]

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa ekspresi *matriks metalloproteinase* (MMP-9) sebagai mekanisme molekuler yang berlebihan terjadi pada edema cerebri dan kerusakan BBB pada cedera otak traumatika. [5,8] MMP adalah enzim endopeptidase *zinc-dependent* yang berperan dalam perbaikan jaringan. Regulasi MMP sangat kompleks dan terkontrol. Hilangnya kontrol regulasi ini akan berperan dalam patofisiologi kerusakan BBB pada edema cerebri. Oleh karena itu, penghambatan MMP-9 menjadi target yang penting dalam perawatan cedera otak traumatika. [5]

Saat ini, modalitas perawatan edema cerebri hanya mengatasi gejala dan belum ada terapi medis yang efektif dalam memodulasi patofisiologi yang berperan pada kebocoran mikrovaskuler yang diinduksi oleh cedera otak traumatika. [9] Tetrasiklin merupakan antibiotik spektrum luas yang mampu melawan berbagai mikroorganisme. Penelitian pada tetrasiklin menemukan sifat farmakologis penting yang berfokus pada pengaturan sistem kekebalan tubuh dan jalur peradangan. Spektrum luas dari efek anti-inflamasi pada tetrasiklin disebabkan karena kemampuannya dalam menghambat sintesis atau aktivitas dari beberapa mediator peradangan [10], seperti MMPs, prostaglandin (PGE), dan sitokin (*tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ), interleukin-(IL-1 $\beta$ , IL-6). [11]

Doksisiklin merupakan inhibitor MMP non spesifik terkuat dalam derivat tetrasiklin yang mampu menghambat MMP-2 dan MMP-9, mengurangi invasi dan migrasi dalam sel kanker, dan memunculkan efek anti inflamasi pada jaringan normal. [12,13] Oleh

karena itu peneliti tertarik untuk mengetahui efek pemberian doksisisiklin terhadap MMP pada edema cerebri setelah cedera otak traumatika.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang masalah tersebut di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian yaitu bagaimana perubahan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri setelah cedera traumatika otak?

## **I.3. Tujuan Penelitian**

### **I.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui perubahan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri setelah cedera traumatika otak

### **I.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengukur kadar MMP-9 pada tikus coba yang tidak mengalami edema cerebri
2. Mengukur kadar MMP-9 pada tikus coba yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak
3. Mengukur kadar MMP-9 pada tikus coba yang diberikan doksisisiklin setelah mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak
4. Membandingkan kadar MMP-9 pada tikus coba yang tidak mengalami edema cerebri, yang mengalami edema cerebri akibat cedera traumatika otak yang diberikan doksisisiklin, dan yang tidak diberikan doksisisiklin

## **I.4 Manfaat Penelitian**

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar untuk mempertimbangkan pemberian doksisisiklin sebagai terapi pada edema cerebri setelah cedera otak traumatika

2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah tentang pengaruh doksisisiklin terhadap kadar MMP-9 pada edema cerebri setelah cedera otak traumatika traumatika
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut mengenai hubungan doksisisiklin dan edema cerebri setelah cedera otak traumatika traumatika

### **I.5 Keaslian Penelitian**

Peneliti belum pernah menemukan penulisan karya ilmiah atau penelitian yang sejenis tentang efek doksisisiklin terhadap kadar MMP-9 dalam edema cerebri setelah cedera otak traumatika pada tikus coba. Peneliti melakukan penelusuran pada PubMed dan perpustakaan Fakultas Kedokteran Unhas dengan kata kunci **The Effect of Doxycyclin at MMP-9 in Cerebri Edema After Traumatic Injury of Rat** yang menghasilkan beberapa penelitian sebagai berikut:

1. *MMP-9, brain edema, and length of hospital stay of patients with spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage after hematoma evacuation along with the administration of tigecycline.*

Penelitian ini membandingkan penurunan kadar MMP-9 pada pasien Perdarahan Intracerebral Spontan Supratentorial (PISS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tigesiklin tidak menurunkan kadar MMP-9 dan derajat edema cerebri. <sup>[14]</sup>

2. *Matrix metalloproteinase-9 expression and protein levels after fluid percussion injury in rats: the effect of injury severity and brain temperature.* Penelitian ini membandingkan tingkat ekspresi MMP-9 dan protein setelah cedera otak

traumatika sedang dan berat. Hasil penelitian menunjukkan peningkatan yang signifikan tingkat mRNA MMP-9 dan protein setelah 24 dan 72 jam setelah cedera sesuai dengan keparahan cedera. <sup>[15]</sup>

3. *Quantitative analyses of matrix metalloproteinase activity after traumatic brain injury in adult rats.* Penelitian ini memperlihatkan analisis kuantitatif PCR otak pada tikus yang mengalami peningkatan ekspresi MMP-9 setelah 24 jam cedera kepala. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa MMP-9 meningkat segera setelah cedera kepala terjadi, sehingga dibutuhkan strategi perawatan untuk mempertahankan integritas MMP-9 yang diinisiasi pada fase akut cedera. <sup>[16]</sup>
4. *Selective inhibition of matrix metalloproteinase-9 attenuates secondary damage resulting from severe traumatic brain injury.* Penelitian ini mengevaluasi MMP-9 dan keefektifan SB-3CT yang merupakan inhibitor selektif gelatinase pada model tikus setelah cedera kepala. Hasil penelitian menunjukkan bahwa MMP-9 menjadi target kunci untuk terapi pada cedera sekunder dan inhibitor gelatinase berpotensi sebagai perawatan farmakologi cedera kepala. <sup>[17]</sup>
5. *The profile of MMP-9, MMP-9 mRNA expression, -1562 C/T Polymorphism and outcome in High-risk Traumatic Brain Injury.* Penelitian ini mengevaluasi efek perawatan hipotermia ringan (34°-36°) dan peningkatan MMP-9 pada 20 pasien dengan risiko cedera kepala berat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terapi hipotermia ringan menurunkan tingkat ekspresi mRNA MMP-9, protein MMP-9 dan meningkatkan skor FOUR dan GCS pada pasien dengan risiko cedera kepala berat dalam 72 jam. <sup>[18]</sup>

6. *Doxycycline Blocks Matrixmetalloproteinase-9 and Attenuates Blood-Brain Barrier dysfunction and Hyperpermeability after Traumatic Brain Injury.*

Penelitian ini memperlihatkan efek doksisisiklin dalam menghambat MMP-9 dan mengurangi hiperpermeabilitas mikrovaskular pada cedera kepala *in vivo*. Hasil penelitian menunjukkan terjadinya peningkatan integritas BBB atau penurunan hiperpermeabilitas mikrovaskuler pada tikus yang dirawat dengan doksisisiklin. [9]

7. *Doxycycline Suppresses Cerebral Matrix Metalloproteinase-9 and Angiogenesis Induced by Focal Hyperstimulation of Vascular Endothelial Growth Factor in a Mouse Model.*

Penelitian ini mengevaluasi doksisisiklin sebagai inhibitor MMP nonspesifik dalam menekan induksi vascular endothelial growth factor (VEGF) pada angiogenesis cerebri model tikus. Hasil penelitian ini menemukan bahwa doksisisiklin efektif dalam menurunkan stimulasi aktifitas MMP-9 cerebri dan angiogenesis parenkimal. [19]

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Tinjauan Pustaka

##### II.1.1 Edema Cerebri pada Cedera Otak Traumatika

Cedera otak traumatika adalah perlukaan jaringan otak bukan karena proses degeneratif atau bawaan lahir melainkan akibat tekanan eksternal yang dapat mengakibatkan penurunan ataupun perubahan status kesadaran. <sup>[1]</sup> Cedera otak traumatika oleh karena iskemia ialah keadaan lanjutan dari kerusakan jaringan otak dengan defisit neurologik yang timbul setara dengan kerusakan otak tersebut.<sup>[20]</sup>

Cedera otak traumatika terbagi menjadi dua fase yaitu cedera primer dan sekunder. Cedera primer disebabkan oleh kekuatan mekanik eksternal secara langsung.<sup>[22]</sup> Hal ini mencakup cedera fokal, seperti lesi yang disebabkan oleh kontusio atau perdarahan,<sup>[23]</sup> sedangkan cedera sekunder mengacu pada peristiwa fisiologis yang mencakup berbagai proses neuropatologik, termasuk eksitotoksisitas, neuroinflamasi, stres oksidatif dan apoptosis.<sup>[23]</sup> Proses sekunder ini terjadi dalam beberapa menit setelah cedera otak traumatika, bisa bertahan selama berbulan-bulan sampai tahun dan berkontribusi dalam perluasan kerusakan jaringan. Manifestasi dan tingkat keparahan proses cedera sekunder ini berbeda tergantung pada jenis cedera, keparahan, dan faktor individu. <sup>[21]</sup>

Cedera sekunder memainkan peran utama dalam morbiditas dan mortalitas yang dihasilkan dari cedera otak traumatika yang ditandai oleh terjadinya iskemia *blood brain barrier*, dan edema cerebri.<sup>[23]</sup> Edema cerebri merupakan keadaan patologis dengan



peningkatan volume otak sebagai akibat akumulasi cairan di parenkim cerebral yang abnormal dan dapat menyebabkan peningkatan tekanan intrakranial.<sup>[24]</sup> Peningkatan tekanan intrakranial di otak akan menginduksi kondisi yang merugikan. Edema cerebri telah diamati pada trauma kepala, iskemia cerebral, perdarahan dan keterlambatan pemulihan setelah kerusakan otak. <sup>[25]</sup>

### **II.1.1.1 Klasifikasi Edema Cerebri**

Edema cerebri dibagi atas dua bagian besar, yaitu:

1. Berdasarkan lokalisasi cairan dalam jaringan otak
  - a. edema cerebri ekstraseluler, bila kelebihan air terutama dalam substansia alba
  - b. edema cerebri intraseluler, bila kelebihan air terutama dalam substansia grisea
2. Berdasarkan patogenesisnya
  - a. Edema Sitotoksik

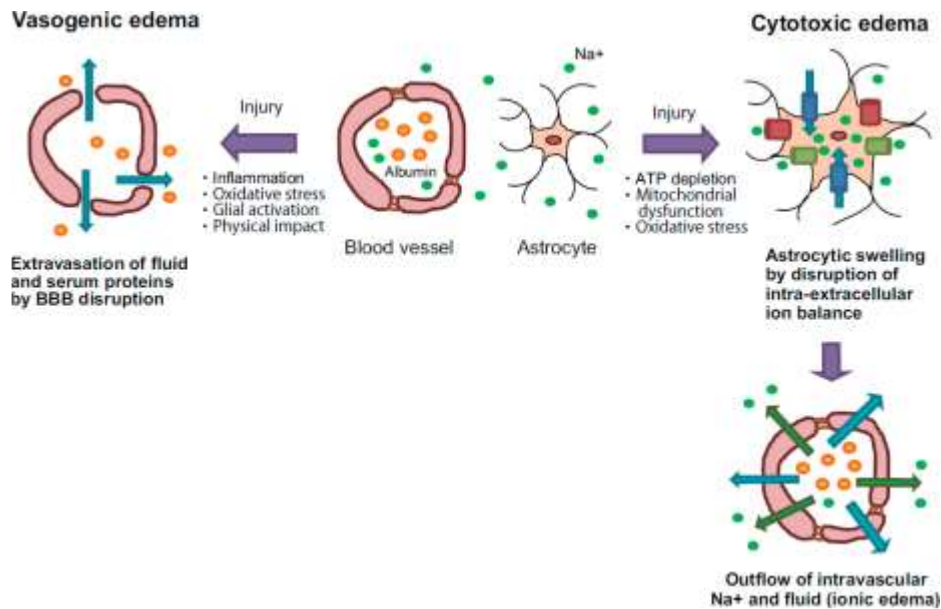
Edema sitotoksik terjadi akibat akumulasi cairan yang abnormal di dalam sel-sel otak dan pembengkakan sel (gambar 1), yang sering diamati pada iskemia cerebral. <sup>[6]</sup>

Pada iskemia cerebral, suplai glukosa untuk sel-sel otak sangat berkurang akibat kerusakan aliran darah otak. Hal ini menyebabkan penurunan produksi ATP intraseluler.<sup>[26]</sup> Penurunan produksi ATP menyebabkan kegagalan transportasi intra-ekstraseluler  $\text{Na}^+$  dan kelebihan akumulasi  $\text{Na}^+$  intraseluler. Peningkatan  $\text{Na}^+$  intraseluler mengakibatkan masuknya cairan ekstraseluler ke dalam sel yang abnormal, sehingga terjadi pembengkakan sel. Pada jaringan saraf, bagian dari produk ini akan diambil oleh astrosit dan menyebabkan stres oksidatif serta disfungsi mitokondria. Peristiwa ini mengakibatkan disfungsi astrositik dan edema. <sup>[27]</sup>

Setelah pembentukan edema sitotoksik, aliran  $\text{Na}^+$  dari pembuluh darah akan semakin cepat karena tubuh mencoba untuk meningkatkan penurunan cairan dan  $\text{Na}^+$  ekstraseluler. [26] Aliran keluar  $\text{Na}^+$  intravaskuler menginduksi ekstrasvasi cairan tanpa mengganggu BBB, dan menyebabkan akumulasi cairan ekstraseluler yang dikenal sebagai edema ionik (gambar 1). Dengan demikian, edema sitotoksik juga menyebabkan peningkatan volume otak dan tekanan intrakranial. [6]

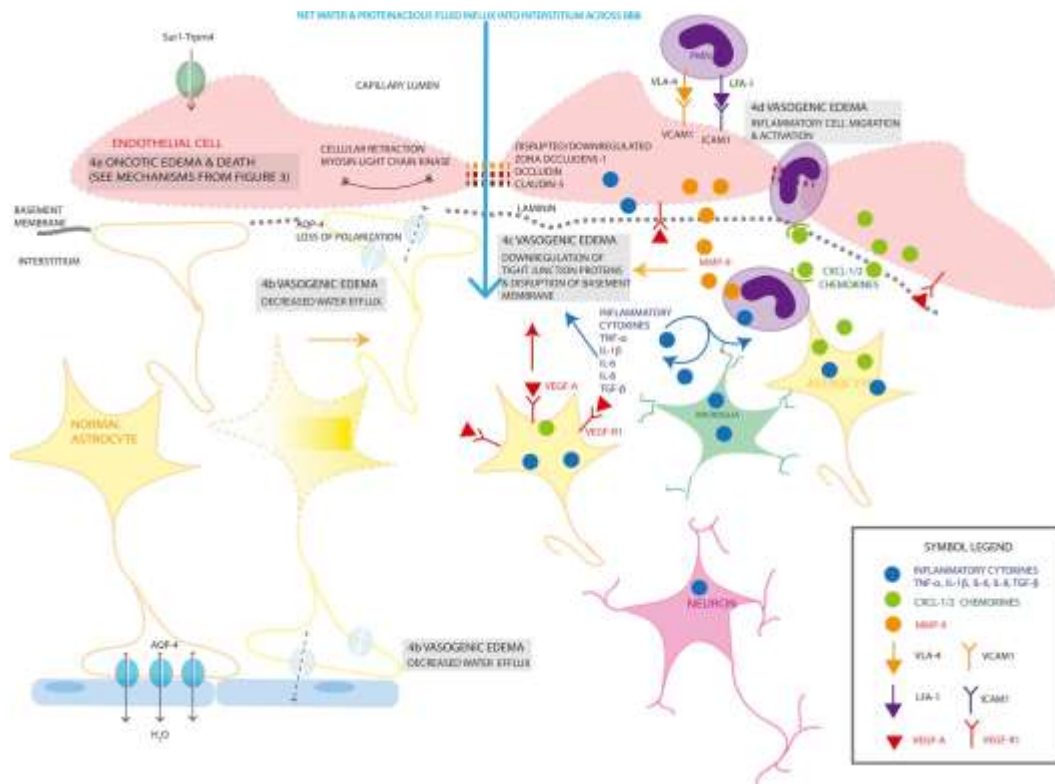
#### b. Edema Vasogenik

Edema vasogenik diakibatkan oleh gangguan pada BBB sehingga terjadi ekstrasvasi cairan dan intravaskuler protein seperti albumin ke parenkim cerebral (gambar 1). Cairan extravasasi menumpuk di luar sel, dan akumulasi cairan ekstraseluler yang berlebihan tersebut menyebabkan peningkatan volume otak dan ICP. [6] Setelah cedera otak traumatika, reperfusi iskemia sementara menyebabkan eksitotoksisitas dan menekan proses oksidasi melalui disfungsi mitokondria. Peristiwa ini menyebabkan rusaknya BBB, sehingga terjadi gangguan BBB yang ireversibel. Selain itu, reperfusi iskemia menginduksi migrasi leukosit [28] dan aktivasi sel-sel glial seperti mikroglia dan astrosit. [28] Sel-sel ini secara berlebihan akan melepaskan faktor permeabilitas vaskuler yaitu sitokin dan kemokin, yang menyebabkan hiperpermeabilitas BBB. [29] Oleh karena gangguan pada BBB yang reversibel, maka masih memungkinkan untuk dilakukan pemulihan menggunakan obat. Gangguan pada BBB dan edema vasogenik sering diamati pada trauma otak, perdarahan dan tahap sekunder dari iskemia. Selain itu, pemulihan gangguan BBB yang reversibel masih memungkinkan untuk jenis cedera ini. [29]



**Gambar 1.** Patofisiologi edema sitotoksik dan edema vasogenik [6]

Edema vasogenik (VasE) diakibatkan oleh gangguan pada BBB sehingga air dan cairan protein masuk ke dalam interstitial. Terdapat beberapa kontributor dalam proses ini seperti retraksi seluler (melalui kontraksi rantai kinase aktin dan myosin dari sitoskeleton), edema sitotoksik dalam sel endotel yang mengakibatkan disrupsi membran dan kematian onkotik, berkurangnya efluks (penghabisan) cairan, degradasi ikatan yang kuat dari protein dan aktivasi sel-sel inflamasi.



**Gambar 2.** Mekanisme yang berkontribusi terhadap edema cerebri vasogenik setelah TBI/cedera otak traumatika [30]

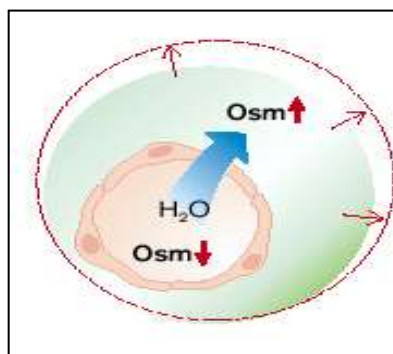
Berkurangnya reflus cairan juga berkontribusi terhadap terjadinya VasE; sebuah mekanisme potensial yang diilustrasikan di sini ialah hilangnya polarisasi aquaporin-4 (AQP-4) dalam perivaskuler dan *periependymal endfeet*. Selain itu, diakibatkan juga oleh astrosit yang mengalami pembelahan sel/ kematian sel onkotik, sehingga *endfeet* tidak lagi dapat berkontribusi untuk menutup BBB, sehingga terjadi VasE. Kontributor lain pada VasE adalah penurunan regulasi ikatan kuat protein dan gangguan pada membran basal. [30]

Disrupsi membran basalis terjadi melalui beberapa mekanisme termasuk MMP-9 yang diproduksi oleh neutrofil dan sel endotel, sitokin inflamasi (TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, TGF- β) yang diproduksi oleh beberapa tipe sel yang diaktifkan oleh cedera termasuk

neuron, mikroglia, astrosit, sel endotel dan migrasi leukosit, serta regulasi *Vascular Endothelial Growth Factor-A* (VEGF-A) dan VEGF-R1 oleh beberapa tipe sel seperti sel endotel dan astrosit. Aktivasi dan migrasi sel-sel inflamasi kemudian akan menimbulkan VasE. [30]

### c. Edema Cerebri Osmotik

Edema terjadi karena adanya perbedaan tekanan osmotik antara plasma darah (intravaskuler) dan jaringan otak (ekstra-vaskuler). Apabila tekanan osmotik plasma turun > 12%, akan terjadi edema cerebri dan peningkatan tekanan intrakranial. Hal ini dapat dibuktikan pada binatang percobaan dengan infus air suling, yang menunjukkan kenaikan volume air. Pada edema cerebri osmotik tidak ada kelainan pada pembuluh darah dan membran sel.

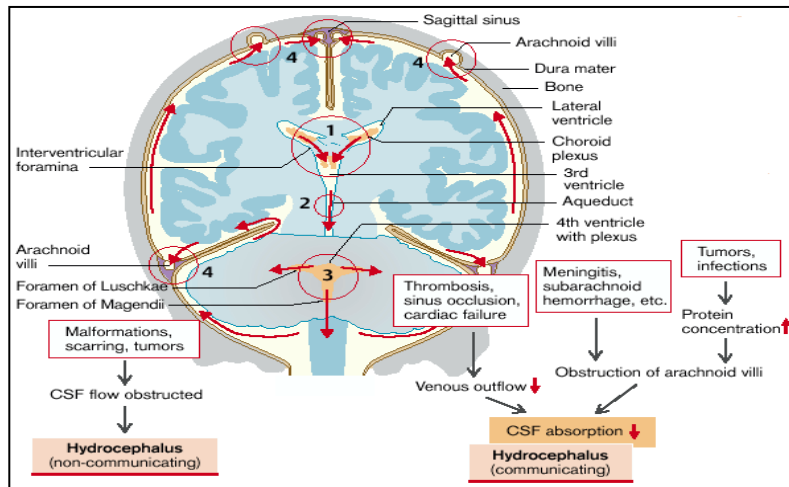


Gambar 3. mekanisme edema osmotik [31]

Edema dapat timbul pada keadaan di mana kadar osmolalitas cairan jaringan otak lebih besar daripada plasma darah, misalnya pada koma hiperglikemik hiperosmolar nonketotik, *water intoxication*, infus dengan cairan hipotonis dan hipersekresi ADH. [31]

### d. Edema Cerebri Hidrostatik/Interstisial

Edema cerebri hidrostatik adalah edema yang terjadi karena adanya perbedaan tekanan hidrostatik pada sistem ventrikel yang disebabkan oleh gangguan sirkulasi dari cairan serebrospinal, cairan tersebut terletak di interstitial daerah periventrikular. Penyebabnya adalah obstruksi hidrosefalus.



**Gambar 4.** Mekanisme Pengaliran CSF dan Hambatan yang Dapat Menimbulkan Hidrosefalus [31]

Edema hidrostatik merupakan penjelasan atas pembengkakan otak dan peningkatan tekanan intrakranial yang parah dan kadang tampak setelah dekompresi hematoma intrakranial yang besar. Penambahan utama tekanan intravaskular intrakranial dihantarkan pada bed kapiler yang tidak terlindung, dan cairan merembes ke rongga ekstraselular. Bila terdapat hidrosefalus obstruktif, sering terdapat daerah radiolusen periventrikular pada CT scan Otak. Kadangkala ini disebut edema interstitial dimana menunjukkan peningkatan tekanan intrakranial yang mendorong air melintasi ependima dari serebrospinal ke substansi putih periventrikular. [31]

### II.1.2. *Matrix Metalloproteinase (MMP)*

*Matriks metalloproteinase* merupakan enzim endopeptidase *zinc-dependent* yang berperan dalam perbaikan jaringan pada berbagai keadaan patologis.[8] Regulasi MMP



sangat kompleks dan terkontrol. Hilangnya kontrol regulasi sangat berperan dalam patofisiologi kerusakan sinaps dan BBB pada cedera kepala, *stroke*, dan neurodegenerasi.<sup>[5]</sup> Cedera otak traumatika pada tikus menunjukkan ekspresi MMP-9 yang meningkat secara signifikan pada 24 jam pasca-TBI, yang tetap diregulasi setidaknya hingga 48 jam setelah cedera. Analisis imunohistokimia juga mengungkapkan peningkatan imunoreaktivitas MMP-9 secara signifikan pada 24 dan 48 jam pasca cedera otak traumatika. <sup>[16]</sup>

MMP memiliki peran dalam terjadinya edema cerebri yaitu kemampuannya dalam memecah berbagai jenis protein matriks ekstraselular termasuk protein lamina basal neurovaskular dan protein ikatan kuat dari BBB.<sup>[32]</sup> Kadar MMP terutama MMP2, MMP3, dan MMP9 meningkat pada keadaan cedera kepala.<sup>[16,33]</sup> Ketiganya menyebabkan kerusakan akut BBB, edema vasogenik, dan bahkan kematian sel. Peningkatan kadar MMP-9 yang terjadi secara temporer berhubungan dengan kebocoran BBB dan terbentuknya edema. Sejalan dengan ini, defisiensi MMP-9 pada hewan coba menunjukkan efek protektif pada cedera kepala.<sup>[34]</sup> Defisiensi gen MMP-9 ini menurunkan kebocoran BBB dan pembentukan edema, menurunkan respons inflamasi, serta meningkatkan integritas membran sel dan status fungsional. <sup>[35]</sup>

#### **II.1.2.1 MMP dalam Edema Vasogenik**

Protease berperan dalam respon inflamasi terhadap cedera, membentuk jalur akhir yang mengarah pada kerusakan BBB, perdarahan dan kematian sel. Setelah cedera traumatik dan iskemik, terjadi penumpukan laktat yang meningkat seiring dengan terjadinya hiperglikemia. Asidosis mengakibatkan pelepasan asam hidrolase, yang

merusak enzim dan menyerang komponen sel, termasuk membran, sehingga mengakibatkan nekrosis sel. Pada situasi pH tetap netral, peningkatan kalsium intraseluler dan sitokin menyebabkan induksi protease netral. Protease netral utama adalah matriks ekstraseluler-degrading MMPs dan aktivator plasminogen /plasmin.

Matriks metalloproteinase merupakan keluarga gen 26 *zinc-dependent protease* yang bertindak pada matriks ekstraseluler selama cedera.<sup>[36]</sup> Biasanya, matriks ini berkontribusi dalam renovasi matriks ekstraseluler, angiogenesis, dan neurogenesis.<sup>[37]</sup> MMPs diproduksi dalam bentuk laten dan diaktifkan oleh protease atau radikal lain.<sup>[38,39]</sup> Selama respon peradangan sebagai bagian dari cedera, induksi MMPs dengan AP-1 dan NF- $\kappa$ B sites pada daerah promotor gen, disebabkan oleh sitokin, seperti tumor necrosis factor- $\alpha$ ' (TNF- $\alpha$ ) dan interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ).<sup>[40]</sup> MMPs akan memecah lamina basal dan ikatan kuat protein, sehingga membuka BBB dan menyebabkan perdarahan.<sup>[41]</sup>

Sebagai bagian dari respons neuroinflamasi pada iskemia-hipoksia otak, MMP memediasi peningkatan permeabilitas BBB, yang mengarah pada edema vasogenik. MMP menyerang protein dari matriks ekstraseluler termasuk kolagen tipe IV, laminin, fibronektin, dan proteoglikan.<sup>[40]</sup> Degradasi komponen lamina basal oleh MMP dapat membahayakan integritas struktural kapiler. Pelemahan proteolitik dinding pembuluh darah juga dapat meningkatkan risiko ruptur.<sup>[42]</sup> Selain itu, ikatan kuat dari protein dalam sel endotel rentan terhadap proteolisis MMP. <sup>[42]</sup>

Blokade farmakologis MMP menggunakan inhibitor spektrum luas secara signifikan dapat mengurangi edema otak setelah perdarahan intra cerebral, dampak cedera kortikal dan bakteri meningitis.<sup>[42]</sup> Beberapa penelitian terdahulu telah mengkaji bahan

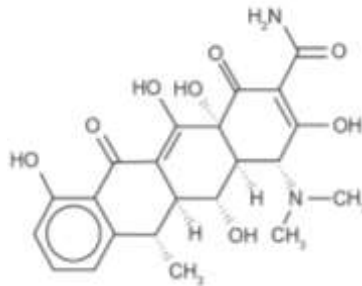
yang digunakan dalam menghambat MMP pada cedera otak traumatika. Rhubarb (akar kering dan rizoma) melindungi BBB setelah TBI melalui signaling pathway oksidasi NADPH / ROS / ERK / MMP-9 / ZO-1. Rhubarb menghentikan efek ERK, yang kemudian mengurangi MMP-9 dan meningkatkan ZO-1.<sup>[43]</sup> Selain itu, minocycline juga dapat menghambat MMP dengan sepenuhnya memblokir efek merugikan cedera otak traumatika pada kehilangan sinapsis yang ditentukan oleh ekspresi synaptophysin.<sup>[44]</sup>

### **II.1.3 Dosisiklin**

Dosisiklin merupakan obat antibakteri dari kelas tetrasiklin dan secara umum bersifat bakteriostatik. Antibakteri kelas tetrasiklin menghambat sintesis protein pada bakteri dengan mengikat subunit ribosom 30S dan memblokir masuknya molekul tRNA amino-Asil ke site A pada ribosom. Hal ini mencegah penggabungan dari residu asam amino menjadi elongasi rantai peptide.<sup>[10]</sup>

Dosisiklin (alpha-6-deoxytetracycline) dikembangkan oleh Pfizer dan merupakan turunan semi sintesis dari oxytetracycline yang pertama kali dikenalkan pada tahun 1967. Obat ini memiliki keuntungan dibandingkan anggota tetrasiklin lainnya karena penyerapan oral yang lebih cepat dan waktu paruh serum yang panjang. Dosisiklin memiliki jangkauan yang luas dalam melawan bakteri gram-positif, bakteri gram negatif dan bakteri atipikal serta beberapa protozoa seperti pada penyakit malaria.<sup>[45]</sup>

Spektrum antibakteri dari dosisiklin termasuk organisme Gram positif dan Gram negatif (seperti spesies aerobik dan anaerobik), mencakup *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), dan beberapa *Mycobacteria*.<sup>[10]</sup>



**Gambar 5.** Struktur Kimia Doksisisiklin<sup>[45]</sup>

### II.1.3.1 Mekanisme Aksi

Doksisisiklin menghambat sintesis protein bakteri dengan mengikat subunit ribosom 30S secara reversibel dan mencegah penggabungan aminoacyl-tRNA dengan ribosom bakteri. Inhibisi sintesis protein terjadi di mitokondria melalui pengikatan ribosom 70S. Oleh karena itu, obat ini bersifat bakteriostatik. Doksisisiklin memasuki sel melalui pori-pori hidrofili pada membran sel luar dan pada sistem transpor aktif pH-dependent dalam inner membran sitoplasmik.<sup>[46]</sup>

Obat ini dapat menghambat matriks metalloproteinase (MMPs) tertentu, yaitu enzim proteolitik yang diproduksi oleh sel-sel inflamasi. Hal ini menyebabkan doksisisiklin berpotensi digunakan dalam berbagai kondisi anti-inflamasi dan anti-neoplastik.<sup>[47]</sup>

### II.1.3.2 Farmakokinetik dan Farmakodinamik

Doksisisiklin hampir benar-benar diserap setelah pemberian oral dalam perut dan usus kecil proksimal. Produk makanan atau susu tidak signifikan mampu mengubah penyerapan, tidak seperti pada tetrasiklin dan minosiklin, dengan penurunan kadar serum sebanyak 20%.<sup>[48]</sup> Waktu paruh serum obat ini panjang yaitu 18-22 jam, dan tidak berubah meskipun terdapat gangguan fungsi ginjal. Kadar serum puncak terjadi

selama 2-3 jam setelah administrasi oral dan 30 menit setelah administrasi intravena. Dosis tunggal doksisisiklin oral 200 mg mencapai puncak konsentrasi serum kira-kira 3.0-5.0 µg/mL, dan dosis tunggal intravena doksisisiklin pada dosis yang sama mencapai konsentrasi serum puncak pada 4-10 µg/mL. <sup>[48]</sup>

Penetrasi terjadi dalam cairan tubuh dan jaringan. Doksisisiklin lebih larut dalam lemak daripada tetrasiklin, sehingga tingkat doksisisiklin yang tinggi dapat terdeteksi pada berbagai jaringan seperti cairan limfatik, cairan peritoneal, jaringan kolon, jaringan prostat dan ASI. Doksisisiklin lebih mudah menembus ke dalam sel-sel bakteri dibandingkan dengan tetrasiklin lain. Doksisisiklin juga menembus ke dalam cairan serebrospinal dengan tingkat rata-rata 0.37-1,3 µg/mL atau 14% – 26% dari konsentrasi serum.<sup>[49]</sup> Konsentrasi tertinggi terdapat pada organ-organ ekskretoris termasuk sistem empedu.<sup>[49]</sup> Konsentrasi terendah berada dalam air liur dan sputum.<sup>[49]</sup>

Lebih dari sepertiga doksisisiklin diekskresikan oleh ginjal melalui filtrasi glomerulus dan persentasi kecil diekskresikan dalam empedu.<sup>[50]</sup> Sisa doksisisiklin akan diekskresikan dalam tinja. Lebih dari 90% dosis oral doksisisiklin dikeluarkan dari tubuh selama 72 jam setelah administrasi obat.<sup>[45]</sup>

### **II.1.3.3 Dosis dan Administrasi**

Doksisisiklin biasanya dimulai dengan dosis awal 200-mg setiap hari, diikuti dengan dosis pemeliharaan 100 mg sehari (atau dua kali sehari untuk infeksi berat). Obat ini dapat diberikan secara oral maupun intravena. Dosis oral harus digunakan dengan cairan yang cukup dan pasien tetap tegak selama 30 menit setelah administrasi. Dosis maksimum yang direkomendasikan ialah 300 mg setiap hari.<sup>[51]</sup>

#### **II.1.4. Mekanisme Doksisiklin dalam Menghambat MMP**

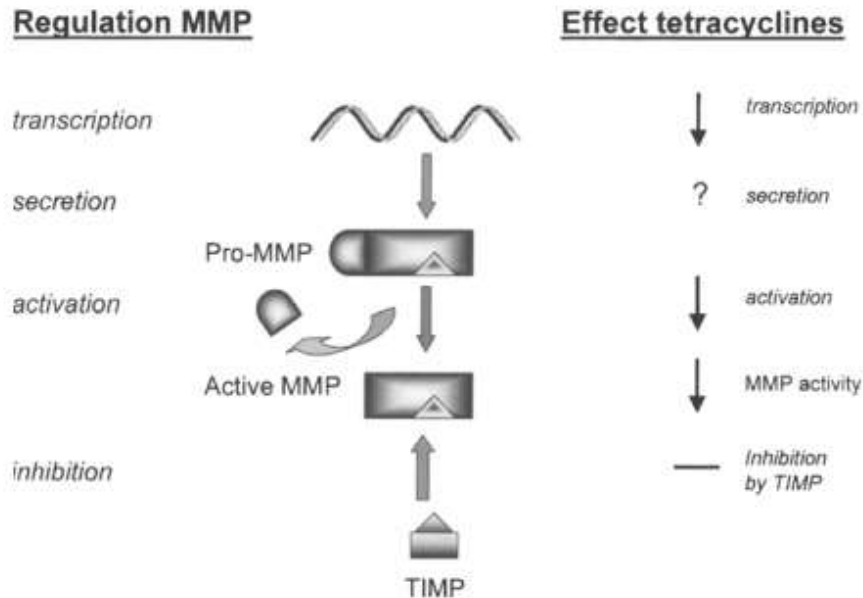
Remodeling matriks adalah proses kompleks di mana matriks metalloproteinases (MMPs) memainkan peran utama. Aktivitas MMP muncul melalui multi-proses. Ekspresi berlebih dan aktivasi MMPs berkorelasi dengan sejumlah kelainan patologi. <sup>[52]</sup> Tetrasiklin dan turunan tetrasiklin mampu menghambat aktivitas MMP, terlepas dari aksi anti-mikroba.

MMP terdiri dari keluarga *zinc metalo-endopeptidase* yang terkait secara struktural, dengan kekhususan substrat yang berbeda, secara kolektif mampu mendegradasi konstituen protein dari matriks ekstra-seluler. Anggota pertama dari keluarga MMP, suatu kolagenase, ditemukan pada tahun 1962 dan sekarang disebut sebagai MMP-I atau kolagenase I / kolagenase tipe fibroblast. Aktivitas MMP merupakan proses yang diatur secara teratur yang terdiri dari transkripsi, sekresi pro-enzim dan aktivasi; aktivitas lebih lanjut dikendalikan oleh seperangkat inhibitor spesifik (inhibitor jaringan metalloproteinases: TIMPs) yang sering diekspresikan bersama dengan protease masing-masing (Gambar 3). Transkripsi MMP dikendalikan oleh berbagai sitokin, mediator proinflamasi, faktor pertumbuhan dan hormon. <sup>[52]</sup>

#### **II.1.5 Dosis dan Administrasi Doksisiklin terhadap Perubahan MMP**

Beberapa penelitian terdahulu telah mengkaji dosis doksisiklin yang diberikan, yaitu dengan oral dosis 30mg/kg (berdasarkan konsumsi air harian rata-rata). Dosis ini telah ditunjukkan sebelumnya untuk memblokir aktivitas MMP pada penelitian in vivo <sup>[53, 54, 55,</sup>

<sup>56]</sup>



**Gambar 6.** Langkah regulasi matrix metalloproteinases dan efek tetrasiklin pada regulasi MMP. Efek tetrasiklin diberikan di sebelah kanan: ↓ = penghambatan; ? = tidak dikenal; - = tidak ada efek. <sup>[52]</sup>

### II.1.6 Cedera Otak Traumatika pada Hewan Coba

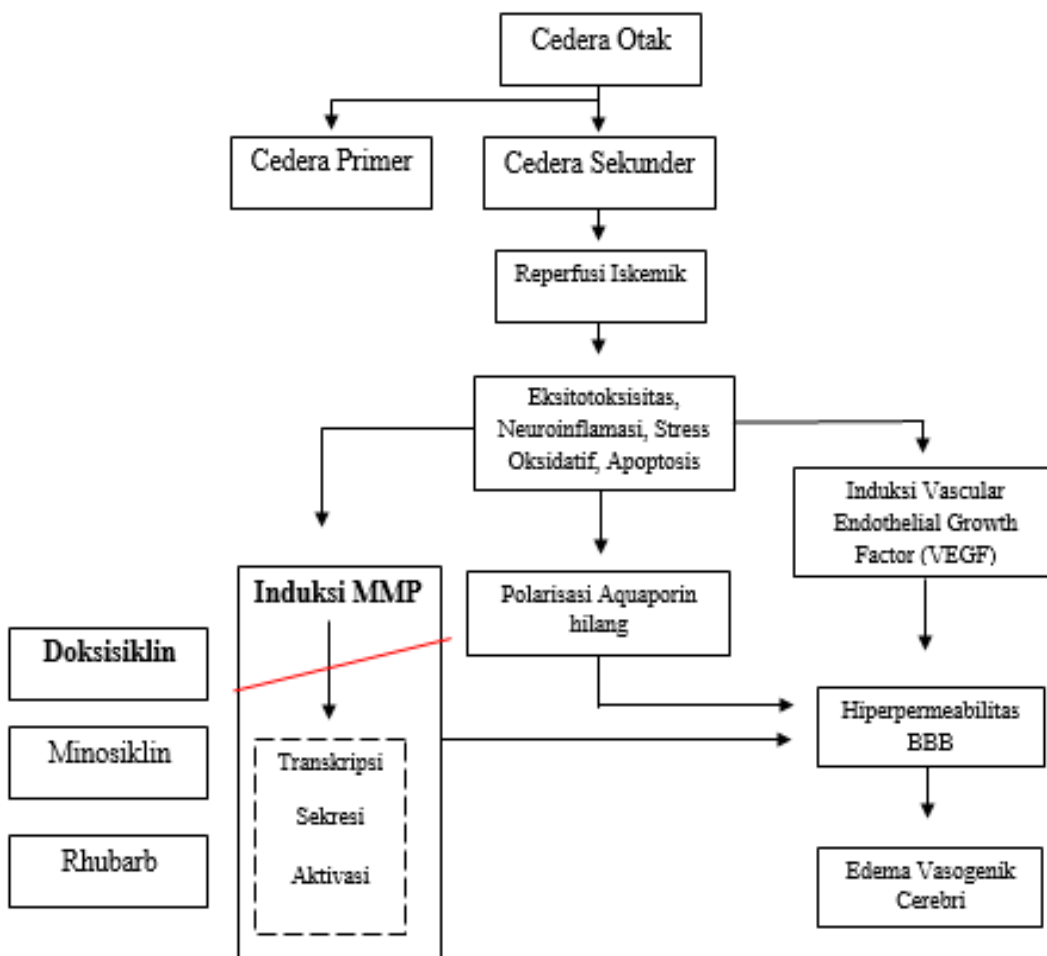
Melihat sifat heterogen dari situasi klinis pada cedera otak traumatika, beberapa metode mencederai otak pada hewan coba telah dikembangkan. Meskipun jenis hewan yang ukurannya lebih besar lebih mirip dalam ukuran dan fisiologi dengan manusia, hewan pengerat sebagian besar digunakan dalam penelitian cedera otak traumatika karena biaya lebih murah, ukuran kecil dan pengukuran hasil yang standar. Di antaranya, empat model spesifik yang banyak digunakan dalam penelitian yaitu: *Fluid percussion injury models* (FPI), *cortical impact injury* (CCI), *weight drop-impact acceleration injury*, dan *blast injury* <sup>[57,58,59]</sup>

### II.1.7 Perbedaan Fisiologis

Meskipun ada persamaan substansial dalam fisiologi antara otak pada mamalia non-manusia (khususnya hewan pengerat) dan otak manusia, jelas ada perbedaan

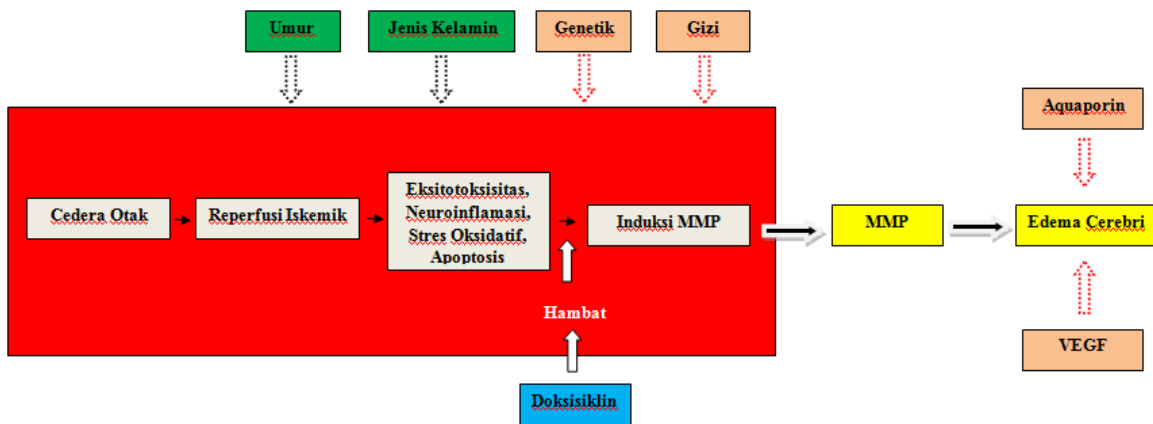
penting antara kelompok-kelompok ini dalam hal struktur dan fungsi otak, termasuk geometri otak, sudut craniospinal, kompleksitas gyral, dan grey matter dan white matter. Karakteristik struktural ini dapat menyebabkan respon yang berbeda secara substansial terhadap trauma dengan tingkat keparahan atau jenis yang sebanding dari spesies ke spesies.<sup>[58]</sup>

## II.2 Kerangka Teori





### II.3 Kerangka Konsep



### II.4. Hipotesis Penelitian

1. Terdapat peningkatan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri akibat cedera otak traumatika
2. Terdapat penurunan kadar MMP-9 pada tikus albino galur wistar yang mengalami edema cerebri akibat cedera otak traumatika setelah diberikan doksisisiklin